ZUR WIRKUNG VON HR AUF DIE DURCH POLIDOACANOL UND ETACRYNSÄURE GESCHÄDIGTEN ISOLIERTEN PFORTADERN UND AORTEN DER RATTE

Pavol Eichler

1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545801_0007

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Wolfgang Forth

ZUR WIRKUNG VON HR
AUF DIE DURCH POLIDOACANOL UND ETACRYNSÄURE GESCHÄDIGTEN
ISOLIERTEN PFORTADERN UND AORTEN DER RATTE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Humanmedizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Pavol Eichler

aus München

München 1981

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. Wolfgang Felix
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Wolfgang Forth
Dekan:	Prof. Dr. Wolfgang Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 17.12.1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
Zusammenfassung		1
1.	Einleitung	2
2.	Material und Methoden	4
3.	Ergebnisse	8
3.1	Polidocanol	8
3.2	HR	12
4.	Diskussion	17
4.1	Polidocanol	17
4.2	HR	19
5.	Literaturverzeichnis	22

ZUSAMMENFASSUNG

Die Wirkung des Polidocanols und der O-(β-Hydroxyäthyl)-rutoside (HR) auf isolierte Gefäßstreifen wurde getestet. Die Größe der Kontraktionen, ausgelöst durch Applikation festgelegter Noradrenalin- bzw. Achetylcholinkonzentrationen, wurde als Maßstab dieser Wirkung herangezogen.

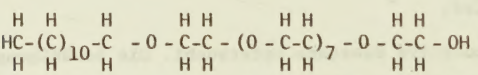
Polidocanol schädigte die Gefäße konzentrationsabhängig. Während bei Konzentrationen von 0,000015 % und 0,00015 % im Gefäßbad (15 min Einwirkzeit) keine nennenswerte Hemmung der Kontraktilität der Venenstreifen auftrat, zeigte sich bei 0,0015 % eine mäßige reversible Schädigung. Nach Gabe von 0,015 % Polidocanol wurden die Spontanaktivität und die Reaktion auf Noradrenalin völlig unterdrückt. Parallel laufende Versuche mit Aortenstreifen erbrachten ähnliche Ergebnisse. Die Hemmung der Kontraktilität scheint auf einer unspezifischen Schädigung zu beruhen und nicht auf einer Blockierung von Receptoren. Diese Schädigung kann erklärt werden als direkte Beeinträchtigung der kontraktilen Strukturen durch ungebundene Einzelmoleküle des Polidocanols oder/und als allgemeine Membranschädigung, in deren Folge die Zellintegrität gestört wird.

HR wurde als protektive und kurative Substanz untersucht. Die Schädigung der Venenstreifen wurde durch Gabe von Polidocanol 0,0015 % (reversible Schädigung) und durch Gabe von Etacrynsäure 0,01 % (irreversible Schädigung) herbeigeführt. Bei protektiver Behandlung der Organe 10 Minuten vor Setzen der Schädigung wurde dosisabhängige Schutzwirkung sichtbar. Der optimale Konzentrationsbereich lag zwischen 0,05 und 0,1 %. Nach der kurativen Applikation dieser Konzentrationen (2 x 20 min während der Erholungszeit) kam es zu einer schnelleren Regeneration der Gefäße im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die gute protektive und kurative Wirkung von HR an den glatten Gefäßmuskeln beruht vermutlich auf einem allgemein membranstabilisierenden Effekt oder/und auf einer Förderung des membrangebundenen Stoffwechsels sowohl intrazellulär als auch an der Membranoberfläche.

1. Einleitung

Trotz jahrelanger Anwendung eines Pharmakons in der klinischen Praxis bleibt es Aufgabe der pharmakologischen Forschung, die Wirkungsweise dieser Substanz auch weiterhin zu untersuchen und unter neuen Gesichtspunkten zu überprüfen. Ein gutes Beispiel dafür ist die Entwicklung von Polidocanol und der O-(β-Hydroxyäthyl)-rutoside (HR).

Ursprünglich als Lokalanästhetikum konzipiert, zeigte Polidocanol eine unerwünschte toxische Wirkung auf das infiltrierte Gewebe, die sich in einer Ödembildung äußerte. Diese war jedoch nicht so stark ausgeprägt, um im gesunden Gewebe Nekrosen hervorzurufen. Hingegen kam es in vorgeschädigtem Gewebe (z.B. in varikös veränderten Venen) zu einer Sklerosierung. Diese Eigenschaften von Polidocanol führten zur Verwendung als Sklerosierungsmittel. Chemisch gehört Polidocanol (Hydroxypolyaethoxydodekan)[1] zu den oberflächenaktiven Substanzen. Das Molekül besteht aus einem apolaren hydrophoben Anteil, dem Dodecylalkohol, und einem polaren hydrophilen Anteil, einer Polyäthylenoxidkette, die miteinander veräthert sind:



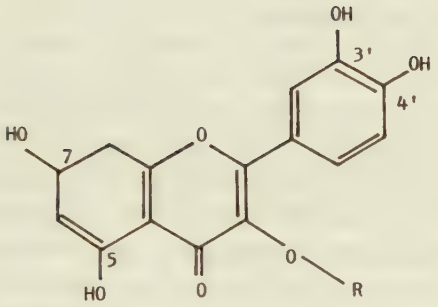
apolarer Anteil — polarer

Durch Bildung von Wasserstoffbrücken entstehen Makromoleküle unterschiedlicher Größe. Neben diesem Makromolekülgemisch befinden sich in einer Polidocanollösung auch einige ungebundene Einzelmoleküle, deren Anteil mit Erhöhung der Temperatur ansteigt (bei Zimmertemperatur und in wäßriger Lösung 3 - 4 %).

Vor etwa 40 Jahren wurden verschiedene pharmakologisch wirksame Substanzen aus der Stoffgruppe der Flavonoide entdeckt. Im Lauf der letzten Jahrzehnte konnten weitere natürliche und seminatürliche Flavonoide isoliert und chemisch definiert werden. Rutin ist das in der Therapie am meisten verwendete Flavonoid. Als Derivat des Quercetins stellt es eine glykosidische Verbindung mit 4 OH-Gruppen dar:

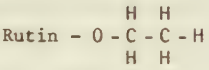
---

1) Aethoxysklerol^{R}, Kreussler



Rutin (R = Rutinose = Rhamnosyl-Glukoserest)

Durch Äthylierung dieser OH-Gruppen entstehen die sehr gut wasserlöslichen O-(β-Hydroxyäthyl)-rutoside (HR) mit den Teilkomponenten Mono-, Di-, Tri- und Tetra-HR:



Die hier angewandte Substanz[1] ist eine standardisierte Mischung von

7 - 10 %	Tetra-5,7,3',4'-HR
5 - 8 %	Tri-5,7,4'-HR
60 - 65 %	Tri-7,3',4'-HR
8 - 12 %	Di-7,4'-HR
5 - 8 %	Mono-4'-HR

Bei allen bisherigen Untersuchungen mit Ödemmodellen zeigte HR eine unspezifische protektive Wirkung am Endothel. Das Ziel der hier vorliegenden Arbeit war, den Einfluß von HR (und auch Polidocanol) auf die glatten Muskelzellen der Gefäße zu untersuchen. Die Wirkung dieser Pharmaka wurde anhand der Kontraktilitätsänderung der Gefäße ermittelt. Damit eine receptorspezifische Schädigung bzw. Schutzwirkung ausgeschlossen werden konnte, wurden die Kontraktionen durch Noradrenalin (NA) und Acetylcholin (ACh) ausgelöst.

---

1) Venoruton^{R}, Zyma

2. Material und Methoden

Alle Versuche wurden an isolierten Gefäßstreifen von männlichen Sprague-Dawley-Ratten mit einem Gewicht von 300 - 400 g durchgeführt. Die Gefäße, Vena portae und Aorta thoracica, wurden aus den durch Genickschlag frisch getöteten Tieren herauspräpariert und spiralig aufgeschnitten (1). Die Venenstreifen waren 10 - 20, die Aortenstreifen 25 - 35 mm lang.

Der Aufbau der Versuchsanordnung ist in Abbildung 1 dargestellt.

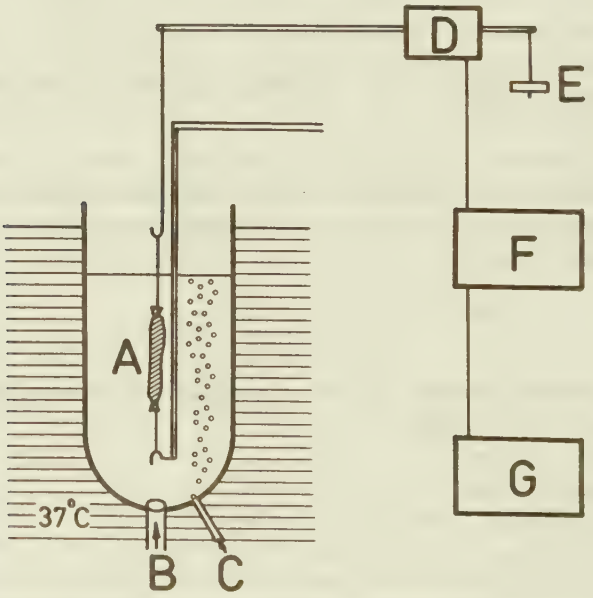


Abb. 1: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung.
A = Gefäßstreifen, B = Zulauf für frische Krebs-Henseleit-Lösung,
C = Begasung mit Carbogen, D = Hebelachse mit Photowiderständen,
E = Gewicht, F = Gleichstrombrücke, G = Schreiber

Die Gefäßstreifen kamen in ein Gefäß mit 22 ml 37°C warmer Krebs-Henseleit-Lösung, die mit Carbogen begast wurde. Zusammensetzung dieser Lösung:

NaCl 122 mMol / l, KCl 4,73 mMol / l, $CaCl_2 \cdot 2\,H_2O$ 3,29 mMol / l, $MgCl_2 \cdot 6\,H_2O$ 1,19 mMol / l, $NaHCO_3$ 15,5 mMol / l, KH_2PO_4 1,19 mMol / l, Glukose $\cdot H_2O$ 11,5 mMol / l.

Die Längenänderung des Präparates wurde isoton gemessen und fortlaufend registriert, und zwar folgendermaßen: Die Gefäßstreifen waren mit dem oberen Ende an einem Hebel befestigt, der den Kontraktionen widerstandsfrei folgte. Die Belastung am anderen Ende des Hebels betrug bei den Venenstreifen 700 mg und bei den Aortenstreifen 1500 mg. An beiden Seiten der Achse trug der Hebel je eine Blende, welche dahinter liegende Photowiderstände, die von einer Lichtquelle beleuchtet wurden, teilweise abdeckte. Eine Auslenkung des Hebels bewirkte, daß der eine Widerstand zunehmend verdeckt, der andere zunehmend freigegeben wurde. Beide Widerstände waren derart in eine Gleichstrombrücke (Filbig KG München) eingeschaltet, daß der Schreiber Verkürzungen oder Erschlaffungen des Präparates linear anzeigte.

Die Kontraktilität der Gefäße wurde an der Wirkung von Noradrenalin (NA)[1] und Acetylcholin (ACh)[2] gemessen. Eine Schädigung der Gefäßstreifen erfolgte einerseits durch Polidocanol (Aethoxysklerol^{R})[3], andererseits durch Etacrynsäure (Hydromedin^{R})[4] in verschiedenen Verdünnungen. Da im Polidocanol ein Gemisch von niedrig- und hochmolekularen Substanzen vorliegt, kann die Konzentration nicht in Mol angegeben werden. Als protektive Substanz wurde ein Gemisch von O-(β-Hydroxyäthyl)-rutosiden (HR) als Handelspräparat Venoruton$^{(R)}$[5] angewandt.

Die Versuche gliederten sich in zwei Gruppen. Bei der einen Gruppe wurden die Gefäßstreifen mit Polidocanol, bei der anderen mit Etacrynsäure geschädigt. Beide Gruppen waren wiederum unterteilt in eine Kontrollgruppe und in Verumgruppen mit verschiedenen Konzentrationen der protektiven Substanz.

Der Versuchsablauf ist in Abbildung 2 dargestellt.

Vor Beginn der Versuche blieben die Präparate zunächst eine Stunde unberührt im Gefäßbad. Anschließend wurden bei den Venen NA und ACh in kumulativen Konzentrationen (10^{-8} bis 5×10^{-6} Mol bei NA und 10^{-7} bis 10^{-3} Mol bei ACh)[6] gegeben, bis annähernd maximale Wirkung erreicht war, und dann wieder ausgespült. Die kumulativen NA-Konzentrationen lagen bei den Arterien zwischen 10^{-9} und 10^{-4} Mol.

---

1) Merck, 2) Baeschlin, 3) Kreussler, 4) Sharp & Dohme, 5) Zyma.
6) Alle Angaben beziehen sich auf die Konzentrationen im Gefäßbad.

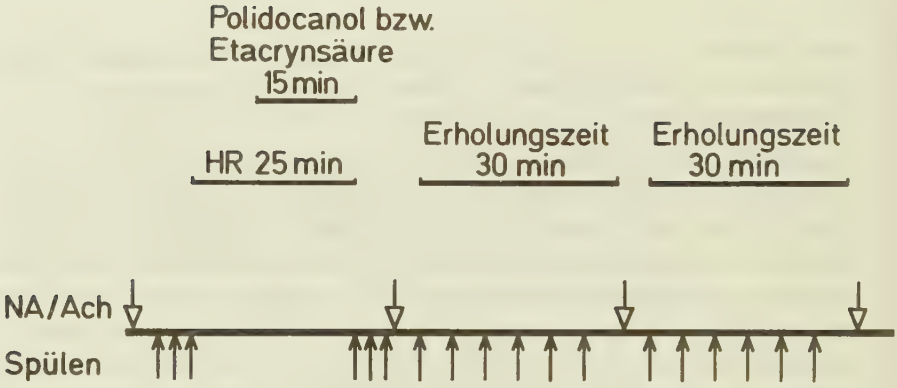


Abb. 2 : Standardisierter Versuchsablauf

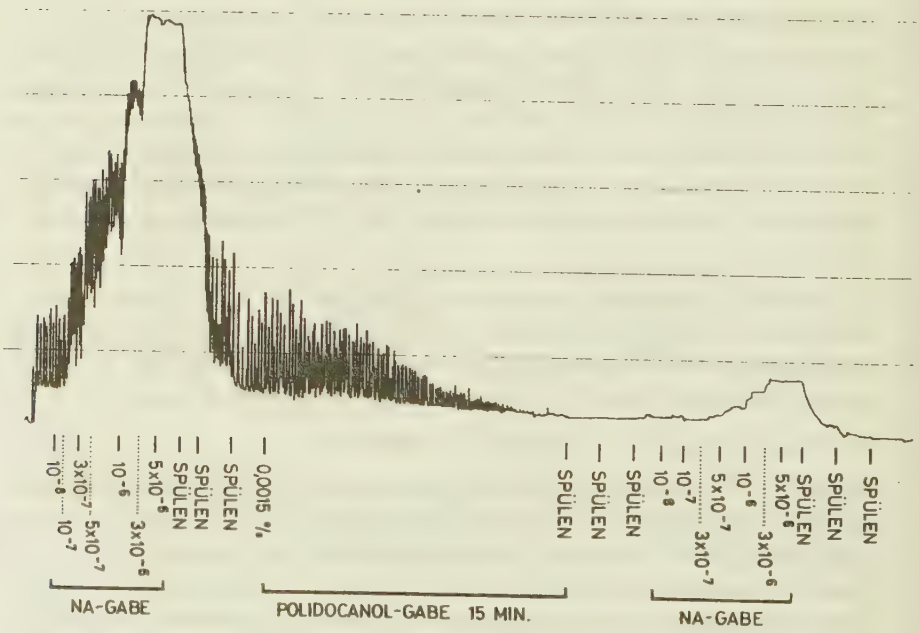


Abb. 3 : Beispiel von Kontraktionen auf Gabe kumulativer NA-Dosen in Anlehnung an den Versuchsablauf

Die Kontrollgruppen erhielten nun Polidocanol bzw. Etacrynsäure. Nach 15 min Einwirkzeit wurden diese als schädigende Substanzen verwendeten Pharmaka durch ausgiebiges Spülen entfernt und die festgelegten kumulativen Konzentrationen von NA bzw. ACh gegeben. Während der dann folgenden Erholungszeit von 30 min wurde erneut mit frischer Krebs-Henseleit-Lösung gespült. Danach schloß sich eine wiederholte kumulative NA- bzw. ACh-Applikation an, dann wiederum eine dreißigminütige Erholungszeit mit Spülen und anschließend eine dritte kumulative NA- bzw. ACh-Gabe. Bei einigen Versuchen wurde dieser Vorgang eine weiteres Mal wiederholt. Die Verumgruppen erhielten 10 min vor Gabe der schädigenden Substanz HR. (Vgl. Abb. 3.)

Die maximale Kontraktion nach der ersten NA- bzw. ACh-Gabe wurde gleich 100 % gesetzt. Die Größen aller weiteren Kontraktionen eines Versuchs, ebenfalls in Prozent ausgedrückt, bezogen sich dann auf diese „maximale Anfangskontraktion". Als Maßstab der schädigenden oder schützenden Wirkung wurde die Änderung der maximalen Kontraktion herangezogen. Die einzelnen Ergebnisse für Kontroll- und Versuchsgruppen wurden mittels t-Test für unverbundene Stichproben ausgewertet.

3. Ergebnisse

3.1 *Polidocanol*

In Vorversuchen hat sich gezeigt, daß Polidocanol die Kontraktilität der Gefäßstreifen dosis- und zeitabhängig vermindert. Damit die Wirkung des Polidocanols in verschiedenen Konzentrationen beurteilt werden konnte, wurde die Einwirkungszeit auf 15 min festgelegt.

Es wurden 4 verschiedene Konzentrationen von Polidocanol angewandt (Abb. 4).

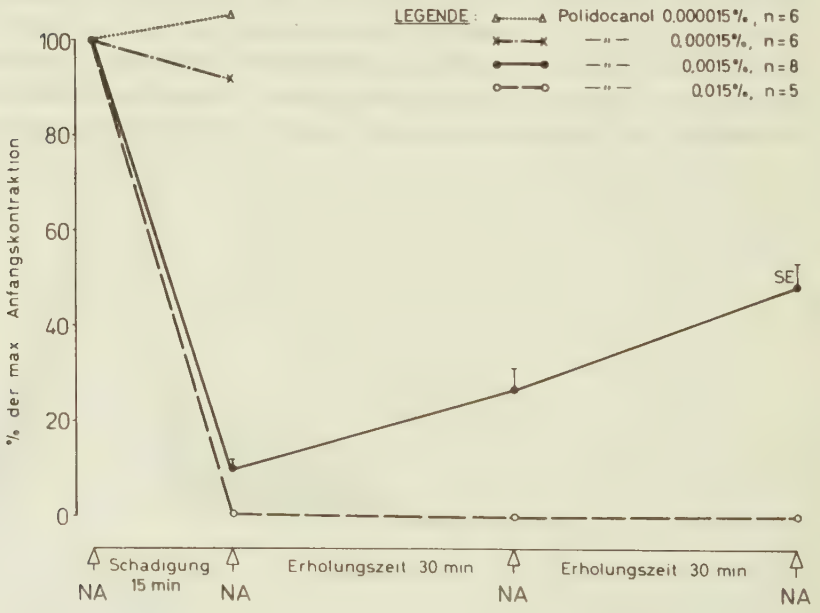


Abb. 4 : Veränderung der maximalen Kontraktionen nach Schädigung eines Venenstreifens der Ratte mit Polidocanol in verschiedenen Konzentrationen und Entwicklung im Verlauf der Erholungszeit

Wie aus der Abbildung hervorgeht, haben die Konzentrationen von 0,000015 % und 0,00015 % im Gefäßbad keinen nennenswert hemmenden Einfluß auf die Kontraktilität der Gefäße. Bei einer Konzentration von 0,015 % sistierten die Spontanaktivität und die Reaktion auf NA. Diese kehrten auch nach einer einstündigen Erholungszeit nicht zurück. Bei einer Schädigung durch Polidocanol 0,0015 % reduzierte sich die größte erreichbare Kontraktion auf 10 % der maximalen Anfangskontraktion. Nach 2 x 30 min Erholungszeit stieg sie jedoch wieder auf 48 % an.

Mit der gleichen Konzentration von 0,0015 % wurde eine weitere Versuchsreihe durchgeführt. Als kontraktionsauslösende Substanz diente jetzt ACh statt NA in kumulativen Dosen (Abb. 5).

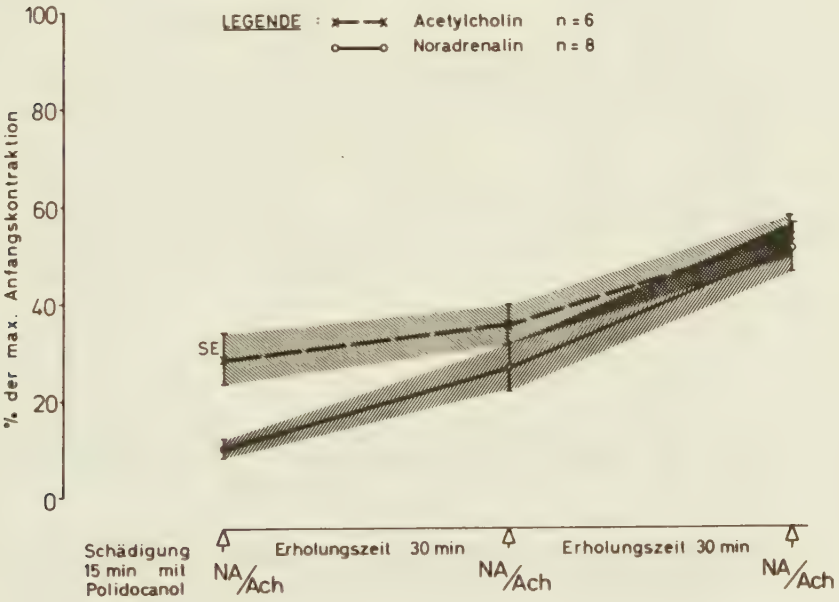


Abb. 5 : Vergleich der maximalen Kontraktionen eines Venenstreifens der Ratte, ausgelöst durch Gabe von NA bzw. ACh, nach Schädigung mit Polidocanol 0,0015 % (15 min), und Entwicklung im Verlauf der Erholungszeit

Bei einem Vergleich der kontraktionsauslösenden Substanzen NA und ACh zeigt die Kurve nach 30 min und 60 min Erholungszeit einen nahezu identischen Verlauf.

Zwei weitere Versuche ergaben, daß nach einer dreißigminütigen Schädigung durch Polidocanol 0,015 % trotz 3 Stunden Erholungszeit NA keine Kontraktion mehr auslösen konnte.

Parallel laufende Versuche mit Aortenstreifen erbrachten ähnliche Ergebnisse (Abb. 6).

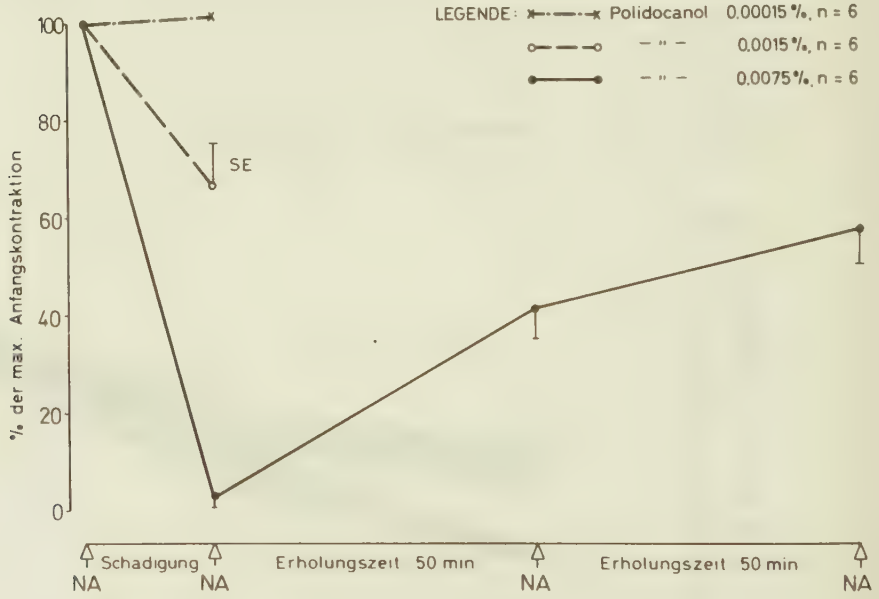


Abb. 6 : Veränderungen der maximalen Kontraktionen nach Schädigung eines Aortenstreifens der Ratte mit Polidocanol in verschiedenen Konzentrationen und Entwicklung im Verlauf der Erholungszeit

Jedoch war die Schädigung bei gleichen Polidocanolkonzentrationen im Vergleich zu den Venenstreifen nicht so ausgeprägt. Allerdings waren die Aortenpräparate beträchtlich länger und dicker.

In zwei ergänzenden Versuchen mit einer Polidocanolkonzentration von 0,03 % und einer 45minütigen Einwirkungsdauer zeigten die Aortenstreifen auch nach 3,5 bzw. 4 Stunden keine Reaktion auf NA-Gabe.

Bei zwei weiteren Vorversuchen mit Calcium (10^{-1} Mol) als kontraktionsauslösende Substanz erfuhren die Aortenstreifen nach Behandlung mit Polidocanol 0,015 % und 45 min Einwirkzeit eine Hemmung auf 29 % der Anfangskontraktion. Analog dazu wurde die maximale Kontraktion eines Venenstreifens nach Inkubation mit Polidocanol 0,0015 % bei 15 min auf 25 % reduziert.

Aus der Dosis/Wirkungs-Kurve (Abb. 7) ist ersichtlich, daß die bei „mittlerer" Polidocanoldosis erzielte mäßige Hemmung der Kontraktion der Venenstreifen einer nicht-kompetitiven Hemmung entspricht.

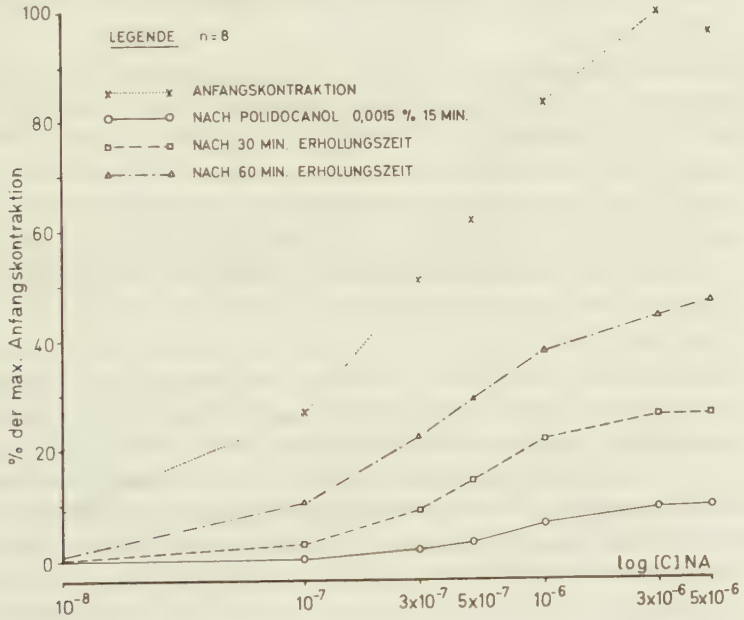


Abb. 7 : Dosis/Wirkungs-Kurve. NA-Kontraktionen vor und nach Behandlung mit Polidocanol

3.2 *O-(β-Hydroxyäthyl)-rutoside*

Die Wirkung von HR wurde unter vier verschiedenen Versuchsbedingungen untersucht:

1) Nach Setzen der Schädigung durch Polidocanol Nachbehandlung der Organe im Gefäßbad mit HR in zwei unterschiedlichen Konzentrationen.
2) Vorbehandlung der Gefäßstreifen mit HR in vier verschiedenen Konzentrationen und anschließende Schädigung durch Polidocanol.
3) Analog den Versuchsbedingungen unter 2) Vorbehandlung mit HR in zwei verschiedenen Konzentrationen und anschließende Schädigung durch Polidocanol. Als kontraktionsauslösende Substanz diente jedoch ACh statt NA.
4) Nach Ermittlung der optimalen HR-Dosis (Resultat der unter 2) aufgeführten Versuchsreihen) Testung derselben bei Schädigung mit Etacrynsäure.

Zu 1):
HR wurde in Konzentrationen von 0,05 % und 1 % angewandt. Diese Angaben beziehen sich auf die Konzentration im Gefäßbad. Da HR aus einem Gemisch von Mono- bis Tetrahydroxyäthylrutosiden (60 - 65 % Trihydroxyäthylrutosid) besteht, ist die Konzentration in Prozent und nicht in Mol angegeben. Polidocanol in einer Konzentration von 0,0015 % bei 15 min Einwirkzeit erwies sich als günstig zur Beurteilung des Effekts von HR, da es die Kontraktionen der Gefäßstreifen nicht vollständig unterdrückte und auch die Kontraktilität sich im Lauf der Erholungszeit verbesserte (Abb. 8).

Wie aus der Abbildung 8 ersichtlich, vermag HR nach erfolgter Schädigung die Erholung der Gefäße zu beschleunigen. Dies äußerte sich in verbesserter Kontraktionsfähigkeit sowohl nach der ersten als auch nach der zweiten Nachbehandlung der Organe mit HR. Diese Nachbehandlung dauerte jeweils 20 min. Mit den dazugehörigen Spülungen entsprach sie ziemlich genau den Erholungszeiten (30 und 60 min) der Kontrollgruppe. Beide HR-Konzentrationen brachten annähernd die gleichen Ergebnisse, obwohl HR in einer Konzentration von 0,1 % bessere Erholung zu bewirken scheint. In Vorversuchen zeigte sich aber, daß eine Erhöhung der HR-Konzentration keine weitere Verbesserung der Kontraktionsfähigkeit ermöglicht.

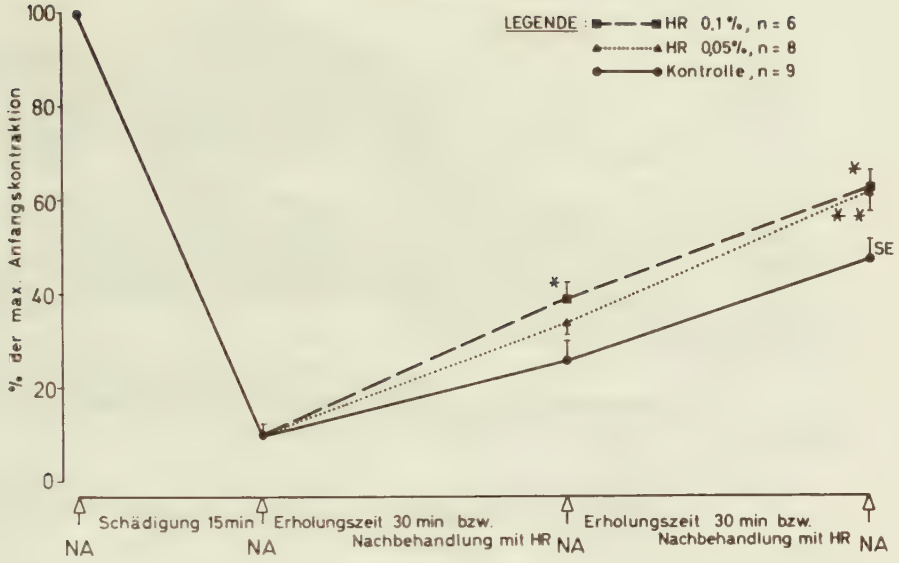


Abb. 8 : Verbesserung der Kontraktilität bei kurativer Gabe von HR nach Schädigung der Venenstreifen durch Polidocanol 0,0015 % 15 min.
* $0,05 > p > 0,025$; ** $p < 0,025$

Zu 2:

Bei HR-Applikation 10 min vor Polidocanolgabe zeigte sich ein schützender Effekt (Abb. 9). Dieser Schutz war nicht vollständig, die Beeinträchtigung der Kontraktilität durch Polidocanol wurde lediglich abgeschwächt. Jedoch erholten sich die Organe im Vergleich zur Kontrollgruppe wesentlich schneller. Diese Wirkung war dosisabhängig, wobei sich die Konzentration von 0,05 % als optimal herausstellte. Auch eine Erhöhung der Dosis von HR brachte keine weitere Verbesserung.

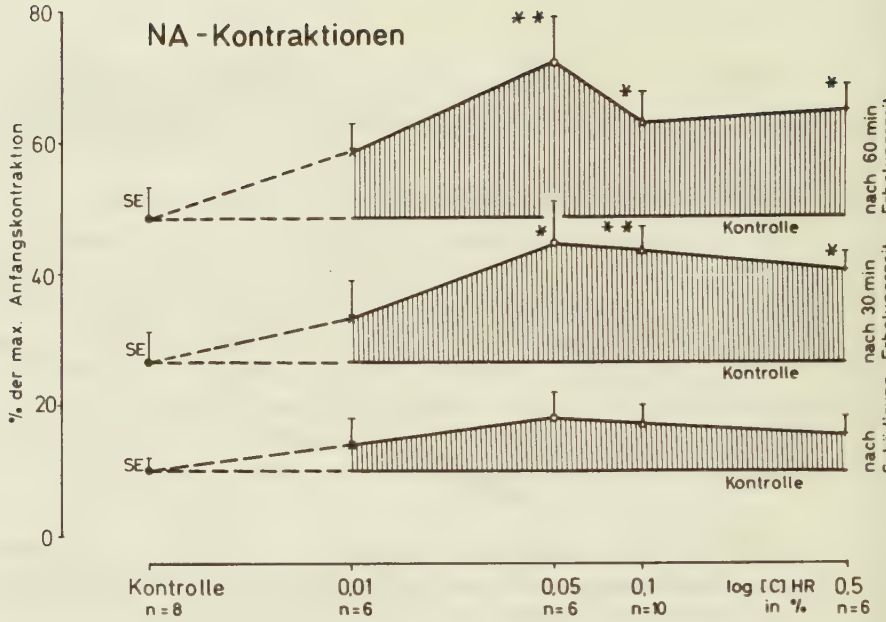


Abb. 9 : Verbesserung der Kontraktilität bei protektiver Gabe von HR in verschiedenen Konzentrationen mit anschließender Schädigung der Venenstreifen durch Polidocanol 0,0015 % 15 min.
* $0,05 > p > 0,025$; ** $p < 0,025$

Zu 3:

Bei Verwendung von ACh als kontraktionsauslösende Substanz zeigte HR auch in der Konzentration von 0,05 % die besten Ergebnisse (Abb. 10).

Zu 4:

Etacrynsäure schädigte die Gefäßstreifen irreversibel, und auch im Verlauf der Erholungszeit verbesserte sich die Kontraktilität nicht mehr (13). Bei Verwendung einer Etacrynsäurekonzentration von 0,01 % ergab sich nur eine mäßige Schädigung. Wenn man eine bessere Aussage über die Wirkung des HR erhalten will, ist eine mäßige Schädigung einer vollständigen Hemmung der Kontraktionsfähigkeit vorzuziehen. Als optimale Dosis erwies sich bei den oben beschriebenen Versuchen mit Polidocanol eine HR-Konzentration von 0,05 % im Gefäßbad. Diese vermochte nicht die Schädigung durch Etacrynsäure gänzlich aufzuheben. Wie aus Abbildung 11 ersichtlich, resultierte jedoch eine deutliche protektive Wirkung.

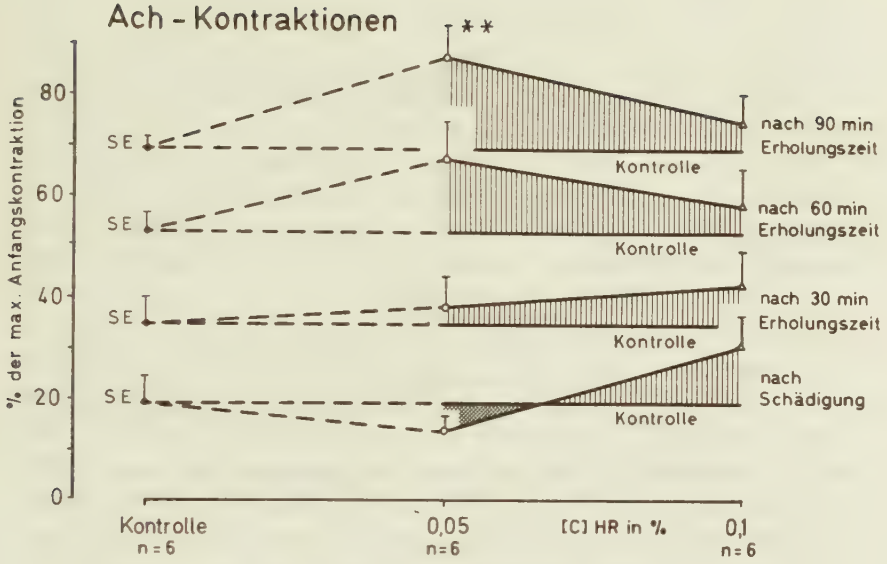


Abb. 10 : Verbesserung der ACh-Kontraktionen bei protektiver Gabe von HR in zwei verschiedenen Konzentrationen mit anschließender Schädigung der Venenstreifen durch Polidocanol 0,0015 % 15 min.
** $p < 0,0025$

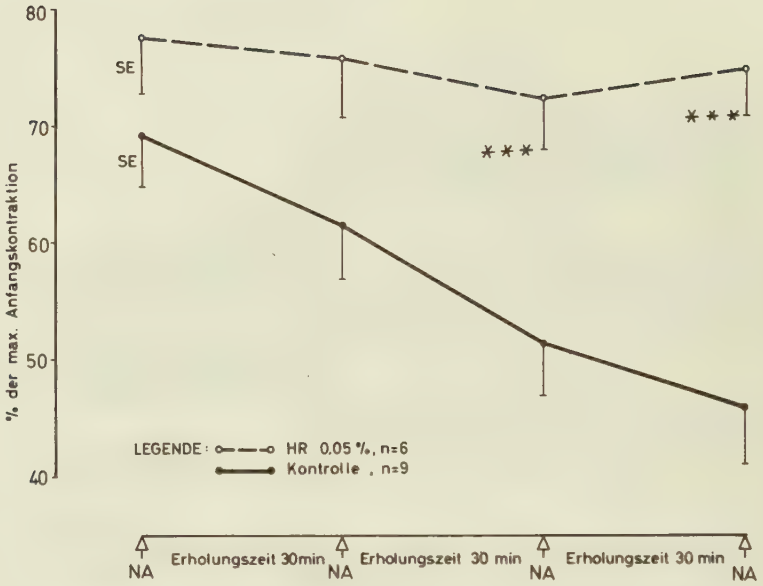


Abb. 11: Verbesserung der Kontraktilität bei protektiver Gabe von HR 0,05 % mit anschließender Schädigung der Venenstreifen durch Etacrynsäure 0,01 % 15 min.
*** $p < 0,01$

In Vorversuchen wurden auch Aortenstreifen mit HR 0,01 % inkubiert. Dabei traten Kontraktionen auf, die durchschnittlich 20 % der maximalen Anfangskontraktion erreichten (n = 9. SE = 6,2). Dieses Phänomen, das ungeklärt blieb, konnte in den Versuchen mit Venenstreifen nicht beobachtet werden.

4. Diskussion

4.1 *Polidocanol*

In der phlebologischen Praxis wird Polidocanol zur Verödung von varikös veränderten Venen verwendet. Die Wirkung soll selektiv sein (2), wobei der intimaschädigende Effekt bei i.v. Applikation in gesunde Venen reversibel ist. Bei vorgeschädigten Venen hingegen kommt es zur irreversiblen Schädigung der Intima mit nachfolgender Thrombosierung und Sklerosierung des alterierten und behandelten Gefäßabschnittes. Nach Henschel (2) wird die varikös erweiterte Vene (speziell ihre Endothelzellen) morphologisch und strukturell verformt. Vornehmlich die Veränderungen der zwischen den Endothelzellen liegenden „Kittsubstanz" bieten einen möglichen Angriffspunkt für sklerosierende Substanzen (aber auch für verschiedene Noxen). Diese Gefäßveränderungen und der molekulare Aufbau des Polidocanols werden für die „selektive Wirkung" des Polidocanols auf geschädigtes Gewebe verantwortlich gemacht.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, befinden sich in einer Polidocanollösung neben dem Makromolekülgemisch auch einige ungeordnete (ungebundene) Einzelmoleküle, deren Anteil mit Temperaturerhöhung ansteigt. Diese Einzelmoleküle werden als Ursache des intimaschädigenden Effekts angesehen (Henschel).

In den bisherigen Untersuchungen wurden die sklerosierenden Eigenschaften des Polidocanols meist unter klinischen Bedingungen getestet. Sie hatten das Ziel, die optimale Dosis, die Art der Applikation und die Bedingungen der Thrombusentstehung zu ermitteln. Aufgrund bisheriger Erkenntnisse lag es nahe, Polidocanol auf seine schädigende Potenz auch bei gesunden isolierten Gefäßstreifen der Ratte zu testen. Die obenerwähnte „selektive Wirkung" erwies sich in den durchgeführten Versuchen als dosisabhängig. Bei relativ niedriger Dosierung konnte weder bei Venen- noch bei Aortenstreifen eine Hemmung der Kontraktionsfähigkeit festgestellt werden. Lediglich die Spontanaktivität der Venen wurde bei dieser Dosierung supprimiert. Durch Einwirkung von Polidocanol in mittleren Dosen entstand eine Schädigung, die nach Ablauf einiger Stunden nicht mehr nachweisbar war. Nach Applikation hoher

Polidocanolkonzentrationen war diese Schädigung jedoch irreversibel, denn die Ansprechbarkeit auf NA kehrte auch nach Erholungszeiten von Stunden nicht mehr zurück. Somit wird deutlich, daß die Schädigung der glatten Muskelzelle abhängig ist von der Polidocanolkonzentration am Wirkort.

Nach Santler (3) ist eine „Nekrosebildung bei extravasaler Gabe außer in schlecht ernährtem Gewebe kaum zu befürchten". Auch Henschel vertritt die Meinung, daß sowohl bei paravariköser Injektion als auch bei der intrakutanen infiltrativen Angiektasenbehandlung keine nekrotischen und atrophischen Erscheinungen zu befürchten seien. Nun wird in der klinischen Praxis Polidocanol in Dosen von 0,5 - 2,0 ml einer 0,5- bis 3prozentigen Lösung verwendet. In den hier durchgeführten Versuchen betrug die höchste Konzentration 0,015 % im Gefäßbad. Diese lag also noch unter der üblichen Konzentration bei extravasaler Anwendung (Behandlung von Besenreiservarizen und Teleangiektasien). Obwohl es sich bei diesen Versuchsorganen um gesunde Gefäße handelte, kam es zu einer irreversiblen Funktionsbeeinträchtigung. Es dürfte daher auch bei extravasaler und intrakutaner Injektion zu Funktionseinbußen des betroffenen Gewebes kommen.

Die Feststellung, daß Polidocanol die Kontraktilität der Gefäße hemmt, warf die Frage auf, welche Gewebestrukturen den Angriffspunkt für diese Wirkung darstellen. Es wurde zunächst angenommen, daß Polidocanol als oberflächenaktive Substanz durch seine vernetzenden Eigenschaften die Wirkung von NA auf adrenerge Receptoren blockiert. Weitere Versuche mit ACh als kontraktionsauslösendes Mittel brachten nahezu identische Ergebnisse. Somit konnte nicht ausgeschlossen werden, daß Polidocanol Receptoren global vernetzt. In den obenerwähnten Vorversuchen mit Ca^{++} als kontraktionsauslösender Substanz zeigte sich aber, daß die Kontraktilität auch hier durch Einwirkung von Polidocanol vermindert wurde. Diese Resultate sprechen sehr dafür, daß die kontraktionshemmende Wirkung des Polidocanols nicht durch Blockierung der Receptoren erreicht wird, sondern daß Polidocanol eine unspezifische Schädigung der kontraktilen Strukturen der Gefäße verursacht. Der Verlauf der Dosis/-Wirkungs-Kurve (Abb. 7) unterstützt ebenfalls diese Annahme. Offen bleibt die Frage, auf welchem Wege diese Schädigung zustande kommt. Folgende Möglichkeiten wären denkbar:

1) Die ungebundenen Einzelmoleküle des Polidocanols dringen in die Zelle ein und schädigen direkt die kontraktilen Elemente.
2) Im Rahmen einer allgemeinen Membranschädigung kommt es zu einer Beeinträchtigung der Zellintegrität, die zu einer Störung der intrazellulären Strukturen, also auch der kontraktilen Elemente, führt.
3) Eine Kombination der beiden oben genannten Möglichkeiten.

Diese Erfahrungen mit Polidocanol und die neuen Aspekte seiner Wirkung führen dazu, die vorliegenden Versuche als Grundlage eines Schädigungsmodells bei isolierten Organen zu benutzen. Mit Hilfe dessen wurden in weiteren Versuchsreihen verschiedene gefäßwirksame Substanzen auf ihre protektive Potenz getestet.

4.2 *O-(ß-Hydroxyäthyl)-rutoside (HR)*

Ir der Therapie und Prophylaxe der chronischen venösen Insuffizienz hat sich HR als Ergänzung der üblichen Behandlung bewährt. Das hier auftretende Ödem stellt das augenfälligste Symptom dieses Krankheitsbildes dar. Zur Erforschung der Entstehungsbedingungen und der Möglichkeiten einer pharmakologischen Beeinflussung des Ödems wurden verschiedene Modelle entwickelt. In diesem Zusammenhang berichten viele Autoren von ihren Erfahrungen mit HR. So konnten Gábor und Blazsó (4) nachweisen, daß eine viertägige HR-Behandlung das mit Carrageenin und Prostaglandin E_1 hervorgerufene Rattenpfotenödem reduziert. Eine Herabsetzung des postischämischen und des Stasisödems wurde nur durch hohe HR-Gaben erreicht (5), während kleine HR-Dosen das Rattenschwanzvolumen unbeeinflußt ließen (6). Die ödemerzeugende Wirkung von Polidocanol und Thiopental am strömungskonstant perfundierten Hinterlauf der Katze wurde durch Vorbehandlung der Tiere mit HR verhindert (7). Hammersen (8) führte histologische Untersuchungen am durch Dextran und Phospholipase A ödematös veränderten Gewebe durch. Er konnte feststellen, daß eine protektive HR-Gabe eine deutliche Hemmung der Ödembildung bei diesen beiden Modellen bewirkte. Weiterhin nahm er an, daß die Wirkung von HR auf einem allgemeinen protektiven Membraneffekt beruhen könnte. Diese Annahme bestätigte Fritz-Niggli (9). In ihren Untersuchungen entfaltete HR eine ausgeprägte Schutzwirkung gegen ionisierende Strahlen. Sie stellte fest, daß die protektive HR-Wirkung vor allem auf einer rascheren Erholung des membrangebundenen Stoffwechsels in den Mitochondrien beruht. Hladovec (10)

setzte Gefäßläsionen und erzeugte dadurch Endothelämien. Die Vorbehandlung mit Flavonoiden verminderte das Ausmaß der Schädigung. Am stärksten wirkten 3 mg / kg, sowohl niedrigere als auch höhere Dosen wirkten schwächer. Die Feststellung, daß es für HR offensichtlich eine „optimal wirksame" Konzentration gibt, konnte durch die hier vorliegenden Versuche bestätigt werden. Die „optimale" Konzentration lag zwischen 0,5 und 0,1 % im Gefäßbad. Dies galt sowohl für die protektive als auch für die kurative HR-Applikation.

Biesendorfer et al. (11) beschrieben eine Hemmung der Hämolyse von Erythrocyten durch HR. Polidocanol in einer Konzentration von 9×10^{-5} Mol (≙ 0,0054 %) bewirkte eine fünfzigprozentige Hämolyse, die HR kompetitiv und dosisabhängig (10^{-5} bis 10^{-2} Mol ≙ 0,00075 - 0,75 %) verhinderte. Die Autoren nahmen an, daß entweder eine „unspezifische hydrophobe Interaktion" zwischen HR und Polidocanol stattfinden könnte oder daß Polidocanol und HR um eine Bindung an die Zellmmembran konkurrieren.

In Vorversuchen zeigte sich, daß HR nach Zugabe von NA bzw. ACh die durch diese Substanzen ausgelösten Kontraktionen nicht beeinflußt, das heißt, die Größe der NA- bzw. ACh-Kontraktionen ist unabhängig von der Anwesenheit des HR. In weiteren Versuchen wurde HR kurativ angewandt. Die Zugabe erfolgte erst nach gründlichem Ausspülen von Polidocanol. Im Vergleich zu den Versuchen, in denen HR protektiv verabreicht wurde, konnte kein wesentlicher Unterschied in der kontraktilitätsverbessernden Wirkung festgestellt werden. Es ist daher anzunehmen, daß unter diesen Versuchsbedingungen im Gefäßbad keine Interaktion zwischen HR einerseits und NA/ACh bzw. Polidocanol andererseits stattfindet.

Die protektive Wirkung des HR ist schon vielfach, vor allem an Ödemmodellen, bestätigt worden. In den vorliegenden Versuchen an isolierten Venenstreifen konnte neben dieser protektiven Wirkung, die sich in einem geringeren Grad der Schädigung äußerte, auch eine kurative Wirkung festgestellt werden. Diese wurde bisher vor allem im klinischen Bereich beschrieben (12). Die schnellere Regenerierung der Organe kann als Ausdruck dieser kurativen Wirkung gewertet werden.

Die Art der Schädigung spielt in diesem Zusammenhang eine wichtige Rolle. Für Polidocanol wurde postuliert, daß entweder die ungebundenen Einzelmoleküle in die Zelle eindringen und direkt die kontraktilen Elemente schädigen oder/und

daß Polidocanol im Rahmen einer allgemeinen Membranschädigung die Zellintegrität beeinträchtigt und somit zu einer Störung der intrazellulären Strukturen führt. Bei der Anwendung von Etacrynsäure darf angenommen werden, daß nicht nur die membrangebundenen (Membran-ATPase) und intrazellulär gelegenen Enzyme (Glykolyse) gehemmt werden, sondern daß auch eine Störung des Zellgefüges vorliegt. Eine Reaktion mit Sulfhydrylgruppen könnte dabei eine Rolle spielen (13).

Die protektive und kurative Wirkung von HR läßt sich nun auf diese Weise erklären:

1) Flavonoide entfalten einen allgemeinen membranstabilisierenden Effekt (8). Dies wäre folgendermaßen vorstellbar:
   a. HR bildet einen schützenden Film, der den Kontakt einer schädigenden Substanz mit der Zellmembran und somit auch das Eindringen dieser Substanz in die Zelle verhindert.
   b. HR verändert die Zellmembran derart (z.B. durch Bindung an bestimmte Membranstrukturen), daß schädigende Substanzen zwar an die Membran gelangen, dort aber ihre Wirkung nicht voll entfalten können. Dies widerspricht nicht der Annahme von Biesendorfer et al. (11), daß HR die Wirkung von Polidocanol kompetitiv hemmt.
2) Bioflavonoide fördern alle Stoffwechselvorgänge, die membrangebunden sind (8). Dadurch wirken sie der Etacrynsäure entgegen, und auch der kurative Effekt bei Schädigung durch Polidocanol wird so verständlich.
   Fritz-Niggli hat diese Stoffwechselförderung auch für die intrazellulär gelegenen Mitochondrien nachgewiesen. Aufgrund seines hydrophilen Charakters dürfte sich HR nur extrazellulär verteilen. Seine intrazelluläre Anwesenheit könnte so erklärt werden, daß es mit Hilfe eines aktiven Transports bzw. einer erleichterten Diffusion in die Zelle gelangt. Ob in vivo wirksame Metaboliten des HR in diesem Zusammenhang eine Rolle spielen, bleibt ungeklärt.

Jedenfalls ist festzuhalten, daß die kurative und protektive HR-Wirkung nicht nur am Endothel, sondern auch an den glatten Muskelzellen der Gefäße zum Tragen kommt.

5. Literaturverzeichnis

1) E. & S. Livington Ltd (Hrsg.): Experiments on isolated preparations. Edinburgh 1968
2) O. Henschel: Die Varizenverödung. Kreussler, 1973
3) R. Santler: Zur Verödungstherapie. Wiener Med.Akademie, Wien 1969
4) M. Gábor, G. Blazsó, in: W.Voelter, G.Jung (Hrsg.), O-(β-Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse, S. 73. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York 1978
5) F. Lund, B. Fagrell, J. Kunichi, P.-O. Glenne, in: Rapport du IIIe Congrès International de Phlébologie, Amsterdam 9. - 13. 9. 1968, S. 519. Stenvert & Zoon, Apeldoorn 1970
6) M. Gloor, H. Rother, H.C. Friedrich, Z.Hautkr. 49, 393 (1974)
7) W. Felix, in: W.Voelter, G.Jung (Hrsg.), a.a.O., S. 93
8) F. Hammersen, in: W.Voelter, G.Jung (Hrsg.), a.a.O., S. 103
9) H. Fritz-Niggli, in: W.Voelter, G.Jung (Hrsg.), a.a.O., S. 169
10) J. Hladovec, Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 27, 1073 (1977)
11) H. Biesendorfer, W. Felix, D. B. Wildenauer, Biochem. Pharmacol. im Druck (1981)
12) J. Bopp, in: W.Voelter, G.Jung (Hrsg.), a.a.O., S. 155
13) H.-J. Backhaus: Zur Wirkung von Aescin und Benzaron auf die durch Etacrynsäure und Polidocanol geschädigten isolierten Pfortadern und Aorten der Ratte, Diss. München 1981

Herrn Prof. Dr. W. Felix danke ich für das Überlassen des Themas und ganz besonders für die freundliche Unterstützung und vielseitige Anregung bei der Durchführung und Abfassung der Arbeit.

Bedanken möchte ich mich auch bei den Mitarbeiterinnen im Labor Felix, Frau Steigerwald und Fräulein Schubert, für ihre bereitwillige Hilfe während der Durchführung der Versuche.

LEBENSLAUF

Als Sohn des Arztes MUDr. Pavol Eichler und seiner Ehefrau Gertrúda, geb. Kaštanková, wurde ich am 4. 3. 1947 in Vyšné Hágy, Hohe Tatra, ČSSR, geboren. Zunächst in meinem Geburtsort, später in Horny Smokovec besuchte ich die Volksschule. Im Jahr 1960 zogen wir nach Stará Ľubovňa um, wo ich am 26. 6. 1963 das Abitur ablegte. Anschließend studierte ich an der Forstfakultät der Hochschule für Holz- und Forstwirtschaft in Zvolen. Am 14. 12. 1968 schloß ich das Studium nach 10 Semestern mit der Staatsprüfung als Dipl.-Forst-Ing. ab. Vom 1. 1. 69 an arbeitete ich im Technischen Büro der Forstdirektion in Žilina. Ende Juli 69 emigrierte ich nach Deutschland und wurde zunächst beim Forstamt Pforzheim angestellt. Vom 1. 1. 70 bis zur Aufnahme meines Medizinstudiums im Sommersemester 1974 arbeitete ich als Tiefbauingenieur zuletzt im Ingenieurbüro Prof. Dr.-Ing. Tschönhens in München. Das Medizinstudium, das ich an der Universität München absolvierte, schloß ich am 25. 4. 1980 mit dem Staatsexamen ab. Seit dem 1. 10. 1980 bin ich als Assistenzarzt für Anästhesie im Kreiskrankenhaus Fürstenfeldbruck tätig.